

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten Würzburg
Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

DER EINFLUSS VON FLUOR- UND KUPFERIONEN AUF DEN GLUKOSEABBAU DURCH NEISSERIA PERFLAVA UNTER AEROBEN VERSUCHSBEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Albrecht Roßbach
aus Karlsruhe

Würzburg 1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTOR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten Würzburg

Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

DER EINFLUSS VON FLUOR- UND KUPFERIONEN AUF DEN
GLUKOSEABBAU DURCH NEISSERIA PERFLAVA UNTER
AEROBEN VERSUCHSBEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Albrecht Roßbach
aus Karlsruhe

Würzburg 1967

Referent: Professor Dr. R. Naujoks

Tag der Promotion:

8. 5. 67

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

I. Einleitung	1
II. Die Geschichte der ...	2
III. Die ...	3
IV. Die ...	4
V. Die ...	5
VI. Die ...	6
VII. Die ...	7
VIII. Die ...	8
IX. Die ...	9
X. Die ...	10
XI. Die ...	11
XII. Die ...	12
XIII. Die ...	13
XIV. Die ...	14
XV. Die ...	15
XVI. Die ...	16
XVII. Die ...	17
XVIII. Die ...	18
XIX. Die ...	19
XX. Die ...	20
XXI. Die ...	21
XXII. Die ...	22
XXIII. Die ...	23
XXIV. Die ...	24
XXV. Die ...	25
XXVI. Die ...	26
XXVII. Die ...	27
XXVIII. Die ...	28
XXIX. Die ...	29
XXX. Die ...	30
XXXI. Die ...	31
XXXII. Die ...	32
XXXIII. Die ...	33
XXXIV. Die ...	34
XXXV. Die ...	35
XXXVI. Die ...	36
XXXVII. Die ...	37
XXXVIII. Die ...	38
XXXIX. Die ...	39
XL. Die ...	40
XLI. Die ...	41
XLII. Die ...	42
XLIII. Die ...	43
XLIV. Die ...	44
XLV. Die ...	45
XLVI. Die ...	46
XLVII. Die ...	47
XLVIII. Die ...	48
XLIX. Die ...	49
L. Die ...	50
LI. Die ...	51
LII. Die ...	52
LIII. Die ...	53
LIV. Die ...	54
LV. Die ...	55
LVI. Die ...	56
LVII. Die ...	57
LVIII. Die ...	58
LIX. Die ...	59
LX. Die ...	60
LXI. Die ...	61
LXII. Die ...	62
LXIII. Die ...	63
LXIV. Die ...	64
LXV. Die ...	65
LXVI. Die ...	66
LXVII. Die ...	67
LXVIII. Die ...	68
LXIX. Die ...	69
LXX. Die ...	70
LXXI. Die ...	71
LXXII. Die ...	72
LXXIII. Die ...	73
LXXIV. Die ...	74
LXXV. Die ...	75
LXXVI. Die ...	76
LXXVII. Die ...	77
LXXVIII. Die ...	78
LXXIX. Die ...	79
LXXX. Die ...	80
LXXXI. Die ...	81
LXXXII. Die ...	82
LXXXIII. Die ...	83
LXXXIV. Die ...	84
LXXXV. Die ...	85
LXXXVI. Die ...	86
LXXXVII. Die ...	87
LXXXVIII. Die ...	88
LXXXIX. Die ...	89
LXXXX. Die ...	90
LXXXXI. Die ...	91
LXXXXII. Die ...	92
LXXXXIII. Die ...	93
LXXXXIV. Die ...	94
LXXXXV. Die ...	95
LXXXXVI. Die ...	96
LXXXXVII. Die ...	97
LXXXXVIII. Die ...	98
LXXXXIX. Die ...	99
LXXXXX. Die ...	100

MEINER MUTTER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0176

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	Einleitung	
	Voraussetzungen für die Kariesentstehung	1
II.	Literaturübersicht:	
	a) Mikroflora der Mundhöhle	2
	b) Kohlenhydrate und "oral-sugar-clearance" in Beziehung zur Karies	4
	c) Fluor in der Kariesprophylaxe	6
	d) Wirkungsmechanismus des Fluors	8
III.	Problemstellung	12
IV.	Material	14
V.	Methodik	15
	a) Manometertechnik	16
	b) Lösungen und Versuchsansätze	16
	c) Berechnung und Ergebnisse	18
	d) Statistik	18
	e) Eichkurve	19
	f) Fehlerquellen	20
VI.	Ergebnisse	22
VII.	Diskussion	39
VIII.	Zusammenfassung	43
	Literaturverzeichnis	44

I. EINLEITUNG

In den hochzivilisierten Ländern Europas und Nordamerikas haben über 95% aller Erwachsenen Gebisse mit kariösen Läsionen. Um hier Einhalt zu gebieten, mußte neben entsprechender Defektversorgung versucht werden, die Entstehung der Karies zu ergründen. Gleichzeitig aber mußte auch ein wirksames vorbeugendes Schutzmittel gefunden werden.

Zahlreiche Untersuchungen und Theorien erbrachten jedoch bisher nur Teilergebnisse. Eines aber steht fest: damit die Karies überhaupt entstehen kann, sind drei Bedingungen erforderlich. CREMER (23) formulierte dies 1957 zusammenfassend:

- a) Kohlenhydrate müssen verabreicht werden,
- b) Bakterien müssen vorhanden sein,
- c) die kohlenhydrathaltige Nahrung muß mit den Zahnflächen in Kontakt kommen.

Entfällt eine dieser drei Voraussetzungen, so ist das Entstehen einer kariösen Läsion unmöglich (ORLAND 62, SHAW 71, KITE 37).

"Kariesaktivität wird durch die Wechselwirkung der drei Faktoren Wirt, Mikroflora und Ernährung bestimmt. Zur Verhütung beziehungsweise Hemmung braucht nur ein Faktorenparameter nicht-konzentrisch zu sein, d.h. keinen kariogenen Einfluß auszuüben" (KEYES 34).

Heute konzentrieren sich daher die Untersuchungen in der Kariesforschung darauf, einerseits die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Faktoren zu klären und andererseits ein wirksames Schutzmittel zu schaffen.

MIKROFLORA DER MUNDHÖHLE

Während des Geburtsvorganges, spätestens jedoch bei der ersten Nahrungsaufnahme wird die Mundhöhle des Säuglings von einer Mikroflora besiedelt. Es gibt kaum Bakterienarten, die nicht gelegentlich in der Mundhöhle angetroffen werden können. Der Ansiedlungsort und die Dichte der immer anzutreffenden Bakterienstämme hängen jeweils von der Anpassungsfähigkeit der einzelnen Bakterienstämme an die ökologischen Bedingungen der Mundhöhle ab (BERGER 6, 7). Die Lebensbedingungen an verschiedenen Stellen sind immer nur für bestimmte Bakterienstämme optimal. BERGER sieht daher den Biotop der Mundhöhle als ein "Mosaik zahlreicher Mikrobiotope".

Am Zungengrund und in der Pharynxgegend sind die Verhältnisse am ehesten konstant. Dort ist auch die Besiedlungsdichte hoch. Die Anaerobier und die fakultativen Anaerobier befinden sich in den Plaques, den Zahnfleischtaschen und den Tonsillenkrypten, da dort der geringe Sauerstoffzutritt ein ungestörtes Wachstum zuläßt. Dagegen ist der Speichel allein nicht als selbständiger Nährboden zu betrachten. Er erfüllt vielmehr die Rolle des Transportmediums.

Erhebt sich die Frage nach der Bedeutung der Mikroflora in der Mundhöhle, so muß man ihr eine komplexe Funktion zuweisen. Eine besondere Aufgabe bei dem Verdauungsvorgang kann verneint werden, da die Verweildauer der Nahrung nur kurz ist und da genügend Enzyme im weiteren Verdauungstrakt zur Verfügung stehen. BERGER sieht die Bedeutung der Mundflora in ihrer charakteristischen Zusammensetzung vielmehr darin, daß sie durch ihre hohe Anpassungsfähigkeit an das Milieu der Mundhöhle einen Schutz gegen obligate Erreger bildet. "Der Organismus nimmt also die ständige Gegenwart fakultativer Erreger in Kauf, um obligate Erreger fernzuhalten" (BERGER 7).

Trotz ihrer Schutzfunktion stellen die Bakterien einen "Parameter" in der Kariesgenese dar (34, 37, 59, 60, 61, 62). ORLAND (61) bewies an steril aufgezogenen Ratten die Bakterienbeteiligung beim Entstehen der Karies. Diese Ratten blieben im Gegensatz zu normal aufgezogenen selbst bei Verfütterung kariogener Kost ohne kariöse Läsionen (59, 61, 62). Desgleichen konnten KEYES (35) sowie KEYES und FITZGERALD (36) die kariogene Wirkung bestimmter Bakterien nachweisen, indem sie einen isolierten Streptokokkenstamm aus der Mundhöhle kariesanfälliger Hamster auf keimfrei aufgezogene kariesresistente übertrugen (28, 35, 36). Die Bakterienübertragung führte in der Folge bei den beimpften Hamstern zu kariösen Defekten. Dagegen blieben Ratten, die über eine Sonde mit kariogener Kost ernährt wurden, kariesfrei (37, 60).

KOHLLENHYDRATE UND "ORAL-SUGAR-CLEARANCE-TIME" IN BEZIEHUNG ZUR KARIES

PEDERSEN (65) stellte bei seinen klassischen Untersuchungen über die Karieshäufigkeit in Grönland bei urbanisierten Eskimos weit mehr kariöse Defekte fest als bei den Ureinwohnern in Ostgrönland, deren Nahrung hauptsächlich aus Fett und Eiweiß bestand. Auch andere Autoren (5, 10) fanden eine direkte Beziehung zwischen der Karieshäufigkeit und der verfeinerten Lebensweise in zivilisatorisch höherstehenden Gegenden. Die Annahme, daß Kohlenhydrate ursächlich bei der Kariogenese wirken, belegten SCHULERUD (70) und TOVERUD (76), als sie nachwiesen, daß bei norwegischen Kindern während des Zweiten Weltkrieges ein Kariesrückgang zu beobachten war, der sich eindeutig auf verminderten Kohlenhydratkonsum zurückführen ließ. Eine endgültige Bestätigung dieser Untersuchung stand fest, als der Zusammenhang zwischen kohlenhydratreicher Nahrung und der Kariesfrequenz experimentell nachgewiesen wurde (22, 29, 30, 31).

GUSTAFSSON und Mitarbeiter (30) konnten nachweisen, daß nicht die hochmolekularen Kohlenhydrate wie Stärke und Glykogen, sondern die niedermolekularen Mono- und Disaccharide unter bestimmten Bedingungen die Kariesfrequenz erhöhen. Kariesfördernde Bedingungen sind gegeben, wenn Kohlenhydrate in klebriger Form und als Zwischenmahlzeiten verabreicht werden. Darüberhinaus bestehen bei kariesresistenten Personen auf der einen Seite und kariesanfälligen Personen auf der anderen Seite erhebliche biochemische Unterschiede im Speichel und in den Plaques. Diese Unterschiede liegen in der Verweildauer der Kohlenhydrate in der Mundhöhle ("oral-sugar-clearance-time"). LUNDQUIST (46) und SWENANDER-LANKE (74) wiesen darauf hin, daß bei einer verlängerten oral-sugar-clearance-time auch die Kariesaktivität erhöht ist.

Die Bakterien verbrennen einen Teil der angebotenen Kohlenhydrate

über den Zitronensäurezyklus zu Kohlendioxyd und Wasser. Dabei werden organische Säuren gebildet, die bei entsprechender Konzentration und Einwirkungsdauer den Zahnschmelz demineralisieren können.

Mit Hilfe biochemischer Methoden untersuchten BRAMSTEDT und Mitarb. (12), BRAMSTEDT und VONDERLINN (18) und KRÖNCKE und NAUJOKS (40) den Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Hierbei wurde unter anderem ein signifikanter Unterschied in der Sauerstoffaufnahme des Speichels kariesresistenter und kariesanfälliger Probanden festgestellt.

In diesem Zusammenhang wiesen NAUJOKS und VONDERLINN (54) sowie KRÖNCKE und NAUJOKS (40) auf die Möglichkeit hin, den Sauerstoffverbrauch des Nüchternspeichels als Kariestest auf biochemischer Grundlage zu benutzen.

Weitere Untersuchungen dieses Arbeitskreises bezogen sich auf die Fermentaktivität im Speichel bei kariesanfälligen und kariesresistenten Personen. NEUBAUER und NAUJOKS (55) fanden, daß die Spaltungsfähigkeit der Maltose fünfmal und die der Saccharose bei Kariesresistenten dreimal so groß ist wie bei Kariesanfälligen. Das gleiche Verhältnis wie bei der Spaltungsfähigkeit der Saccharose ergab der Sauerstoffverbrauch des Speichels sowie die Aldolaseaktivität (NAUJOKS und Mitarb. (52)). Der Vergleich der Hexokinaseaktivität zeigte nach BRAMSTEDT und Mitarb. (17) zwischen kariesresistenten und kariesanfälligen Personen ein Verhältnis von 4 : 1.

FLUOR ALS KARIESPROPHYLAKTICUM

Die Bedingungen, die zur Entstehung der Karies unerlässlich sind (CREMER 23, KEYES 34), ergeben für die Kariesprophylaxe drei Ansatzpunkte.

Der nächstliegende Gedanke wäre, die Ernährung auf eine kohlenhydratarme oder kohlenhydratlose Kost umzustellen (KITE 37, ORLAND 62, BELDING 4). Hieraus ergeben sich aber, auf menschliche Verhältnisse übertragen, Konsequenzen, die lediglich von akademischem Interesse sein können, da nur eine Schlundsondenernährung Kohlenhydrate von der Mundhöhle fernzuhalten vermag.

Die Beeinflussung der Mundhöhlenbakterien erscheint als weitere Möglichkeit. KRASSE (39) erwähnt die Hemmung der Karies durch Eingriffe in die Mikroben-tätigkeit. Nach seinen Untersuchungen wirkten bei Hamstern beispielsweise Protaminsulfat und Natriummetabisulfat genauso wie der Bakterienstamm *Bacillus brevis* kariostatisch.

Besonders hervorzuheben ist die Kariesprophylaxe mit Fluor, eine Prophylaxe, die durch jahrzehntelange systematische Forschung und klinisch-epidemiologische Beobachtung zu einer Maßnahme geworden ist, die heute nicht mehr fortzudenken ist.

Schon 1874 wurde von dem deutschen Arzt Erhardt Kalium fluoratum als kariesverhütendes Mittel verordnet (BAUME 3). BLACK (zit. nach BAUME 3) verdanken wir den ersten Bericht über das Auftreten von geflecktem Schmelz; damit gab er uns einen Schlüssel zur Lösung des Kariesproblems. Studien über die endemische Zahnfluorose durch MCKAY (zit. nach BAUME 3), histologische Untersuchungen durch CHURCHILL (zit. nach BAUME 3) und Experimente an der Ratte mit starken Fluorgaben durch SCHOUR (zit. nach BAUME 3) sind weitere wichtige Meilensteine in der Fluorforschung. DEAN's (zit. nach BAUME 3) großangelegte Kariesstatistiken in den Fluorosegebieten von Amerika gaben COX (zit. nach BAUME 3) im Jahre

1939 die Anregung, aus kariesprophylaktischen Gründen Natriumfluorid dem Trinkwasser beizumischen.

Seit dieser Zeit wird die Fluorprophylaxe in Verbindung mit der Kariesbekämpfung diskutiert. 1957 wurde auf dem WHO-Kongress in Genf von einem Expertenkomitee festgestellt: "Die Wirksamkeit, Sicherheit und praktische Durchführung der Fluoranwendung als Kariesprophylacticum gegen die Zahnkaries ist anerkannt" (CREMER 21). Heute wird das Fluor im Trinkwasser, in Tabletten, im Kochsalz, in der Milch und in anderen Nahrungsmitteln und schließlich durch die örtliche Applikation von Lösungen und mit Hilfe von Zahnpasten verabreicht (CREMER 21, HELD 32, MARTHALER 48, 49).

TRAUTZ und ZAPANTA (77), WELLOCK (83) und PAMEIJER (63) zeigten in ihren Untersuchungen, daß saure Fluoridlösungen bereits bei einmaliger jährlicher Oberflächenapplikation zu einem eindeutigen Kariesrückgang führten. MARTHALER (48) konnte bei Schulkindern eine 30 %ige Kariesreduktion durch Anwendung einer aminfluoridhaltigen Zahnpaste über drei Jahre feststellen.

Grundsätzlich gibt es für die Einlagerung von Fluor in den Zahnschmelz zwei Möglichkeiten: 1. auf humoralem Wege vor dem Zahndurchbruch und 2. durch lokalen Kontakt nach dem Zahndurchbruch. Wird nun die Fluorkonzentration in den oberflächlichen Schmelzschichten nicht durch ständig weiteres Fluorangebot aufrecht erhalten, so sinkt sie im Laufe der Jahre ab. Nach MARTHALER (49) ist sie damit als reversibel anzusehen.

Die Lebensgewohnheiten in verschiedenen Gebieten führen über die oben angeführten Darreichungsformen zu unterschiedlicher Fluoraufnahme. Daher muß je nach örtlichen Gegebenheiten die Fluorkonzentration im Schmelz zum Schutze gegen die Karies durch individual- und massenprophylaktische Maßnahmen sichergestellt werden. Bei entsprechender Dosierung bleibt die Fluorkonzentration dann im Organismus weitgehend konstant (ARMSTRONG 2, LEONE 43).

ARMSTRONG (2) erklärt: "Trotz großer Schwankungen in der Fluoreinnahme bleibt die Fluorkonzentration im Organismus bemerkenswert konstant. Diese Homeostase wird durch die Nieren als Fluorausscheidungsorgan und durch das Skelett gesichert".

WIRKUNGSMECHANISMUS DES FLUORS

Zur kariesprophylaktischen Wirkung des Fluors werden im wesentlichen zwei Möglichkeiten (3) diskutiert: 1. die Schmelzlöslichkeitstheorie und 2. die antienzymatische Theorie.

Die erste Theorie der karieshemmenden Fluorwirkung fand ihre Grundlage in der Beobachtung, daß mit Fluor vorbehandelter Schmelz säureresistenter ist als unbehandelte Zahnhartsubstanz (79, 80). NEUMANN (56) hat bewiesen, daß bei einer Reaktion von Hydroxylapatit mit Fluoridionen Hydroxylionen gegen Fluoridionen ausgetauscht werden. Dabei kommt es zum Einbau von Fluoridionen in den Kristallverband des Schmelzes, und es entsteht somit Hydroxylfluorapatit, der säureresistenter ist als Hydroxylapatit. Bedingt findet auch nach dem Zahndurchbruch dieser Ionenaustausch bei enteraler Fluoridzuführung über den Speichel statt.

Weitere Unterstützung erhält die Schmelzlöslichkeitstheorie durch die Tatsache, daß Fluor eine Remineralisation, d. h. eine Phosphatanlagerung bewirkt. Dieser Remineralisationsvorgang ist besonders an beginnenden Kavitationen und an Schmelzsprüngen zu beobachten (19, 20, 33).

Als weitere Wirkungsmöglichkeit kann die antienzymatische Fluorwirkung nicht unerwähnt bleiben. Dabei sollen geringe Fluormengen

(1 - 2 ppm) in den bakteriellen Stoffwechsel eingreifen und bestimmte Enzymsysteme hemmen (8. 11. 33. 44. 47. 82, 85). Das Fluor bildet intrazellulär entweder mit Metallaktivatoren einen Komplex, oder es besetzt die Wirkgruppe des Enzyms selbst und hemmt auch dadurch kompetitiv. Dieser Wirkungsmechanismus ist bei einigen Fermenten des Kohlenhydratstoffwechsels genau untersucht. Als erste beobachteten WARBURG und CHRISTIAN (82) eine durch Fluor hervorgerufene Hemmung der Enolase. Später wiesen NICKERSON und CHUNG (57) an der Phosphorglukomutase und MELCHIOR und MELCHIOR (50) an der Hexokinase die Hemmwirkung durch Fluor nach.

Eine Erklärung für die Inhibition durch Fluor gaben WARBURG und CHRISTIAN (82) nach ihren Versuchen mit der Enolase. Die Fluorionen verbinden sich mit Magnesium, dem Coferment der Enolase, zu einem Magnesium-Fluor-Phosphat-Komplex. Die Mg^{++} -Ionen fallen als Coferment der Enolase aus und verhindern so das Entstehen des reaktionsfähigen Fermentes.

Durch die Blockade der oben angeführten Enzyme ist der Kohlenhydratstoffwechsel der Bakterien erheblich eingeschränkt. Die Fermenthemmung ist aber nur möglich, wenn das Fluor intrazellulär wirken kann. Das Eindringen des Fluors ist jedoch abhängig vom pH-Wert. LOTT (45) bezieht sich weitgehend auf JENKINS (33) und erklärt: "Das Fluor häuft sich vorwiegend in den Plaques in Form von CaF_2 mit einer Löslichkeit von 16 ppm bei pH 7 an. Wenn die Bakterien Säuren produzieren, die als Abfallprodukte des bakteriellen Energiemetabolismus ausgeschieden werden, fällt der pH-Wert rasch unter 5. Dies führt zur Bildung von undissoziierter Flußsäure, die als solche in die Mikroorganismen eindringt". Innerhalb der Zelle dissoziiert die Flußsäure und kann somit biochemisch aktiv werden. Zum gleichen Ergebnis kommt LIPMANN (44).

STEPHAN und MILLER (73) untersuchten die Säurebildung in den Plaques unter anaeroben Bedingungen. Schon nach kurzer Zeit wird

ein pH-Wert um 5 erreicht. Damit verschiebt sich nach dem Massenwirkungsgesetz das Gleichgewicht zugunsten der freien Flußsäure (47, 69). Aufgrund der Zellmembranverhältnisse und der Molekülstrukturen können die ladungsarmen Moleküle HF und HF_2^- entsprechend dem Konzentrationsgefälle die Zellwand durchwandern. In der Zelle dissoziieren die Fluorverbindungen und erhöhen so die intrazelluläre Wasserstoffionen-Konzentration. Ein äquimolarer Kaliumverlust ist die Folge. Nach FENN (26) führt schon allein der Kaliumverlust zu einer Hemmung im Kohlenhydratstoffwechsel, denn an Leberzellen stellte er eine Beeinflussung der Glykogensynthese durch die intrazelluläre Kaliumionen-Konzentration fest.

Auch die Wirkungsweise des Fluorions in der Zelle wurde untersucht. Die Aktivierung des Zellstoffwechsels war nach RUNNSTRÖM und SPERBER (69) bei Hefezellen auf die Reizwirkung der Fluorverbindung zurückzuführen. Den Reiz beantworten die Hefezellen mit erhöhter endogener Atmung.

Mit steigender Fluoridkonzentration nimmt dann die Stoffwechselaktivierung bis zur signifikanten Hemmung wieder ab. BOREI (11), der die Ergebnisse von RUNNSTRÖM und SPERBER bestätigt, erklärt den Wirkungsmechanismus genauer: In den Zellen stabilisieren Ca^{++} -Ionen viele monomolekulare Schichten. Das F^- -Ion verbindet sich mit dem Ca^{++} -Ion. Die des Stabilisators beraubten Schichten brechen auf und geben dadurch dem vorhandenen Substrat neue reaktionsfähige Enzymflächen frei.

Vergleicht man nun die Untersuchungsergebnisse der Heferversuche von RUNNSTRÖM und SPERBER mit denen von BRAMSTEDT, NAUJOKS und Mitarb. (13, 14, 15, 16) so findet man analoge Verhältnisse.

Eine Hemmung des Zuckerumsatzes tritt bei Speichelbakterien erst bei relativ hohen Fluorkonzentrationen ein, wie sie bei der Trinkwasserfluoridierung nicht vorkommen. Dagegen ergaben Fluorkonzentrationen von 10^{-4} M eine signifikante Aktivierung des Glukose-

abbaus. Da kariesanfällige Personen im Speichel einen langsameren Glukoseabbau aufweisen als kariesresistente, kann man durch entsprechende Fluorgaben die Zuckerelimination aus der Mundhöhle beeinflussen. Der Glukoseabbau wird beschleunigt und somit die "oral-sugar-clearance-time" für Glukose verkürzt.

III. PROBLEMSTELLUNG

Der Einfluß von Fluor auf Stoffwechselvorgänge ist weitgehend bekannt. Auch die mineralischen Veränderungen, hervorgerufen durch Fluor, sind erforscht. Über diese beiden Vorgänge, nämlich die Herabsetzung der Schmelzlöslichkeit und die Beeinflussung der Mundhöhlenflora, erklärt man heute die kariesreduzierende Wirkung des Fluors (s. S. 8-11).

Gleichermaßen ist die stoffwechselhemmende Wirkung von Schwermetallen beschrieben. Bei entsprechender Konzentration können Schwermetallionen als Zellgifte wirken. Da nun in der Mundhöhle häufig Schwermetallverbindungen als Füllungsmaterialien für defekte Zähne verwendet werden, liegt die Annahme einer Stoffwechselbeeinflussung innerhalb der Mundhöhle nahe.

Von KÜHNAU (42) wird die erzielte Aktivierung des Glukoseabbaus im Speichel durch niedere Fluorkonzentrationen über die Bildung eines Fluor-Schwermetallionenkomplexes erklärt. Entsprechende Untersuchungen sind bisher kaum bekannt geworden. Der Mechanismus der Aktivierung des Glukoseabbaus im Speichel ist jedoch, wie ausgeführt, von besonderer Bedeutung. Von speziellem Interesse ist hierbei die Beeinflussung der zahlenmäßig wichtigsten Bakterienarten in der Mundhöhle.

Bei Betrachtung der Gesamtzahl der aerob wachsenden Mundhöhlenbakterien folgen die Neisserien den Streptokokken. Daher steht ihr Verhalten im kariösen Geschehen mit im Vordergrund des Interesses.

In der vorliegenden Arbeit wurde nach Festlegung von standardisierten Versuchsbedingungen untersucht:

- a) Wie wirken niedere Fluorkonzentrationen auf den Glukoseabbau von *Neisseria perflava*?

- b) Wie wirken Schwermetallionen, insbesondere Cu-Ionen, auf den Glukoseabbau von *Neisseria perflava*?
- c) Können Fluorzugaben bei *Neisseria perflava* die Stoffwechselbeeinflussung durch Schwermetallionen ganz oder teilweise aufheben?

IV. MATERIAL

Als Untersuchungsmaterial stand ein Stamm von *Neisseria perflava* (Stamm A 2) zur Verfügung. Die Bakterien waren aus einer kariesanfälligen Mundhöhle isoliert und wurden uns von Frau Dr. E. Ranke aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, Hamburg^{x)}, als Gefriertrockenpräparat übersandt.

Neisseria perflava läßt sich von den anderen sog. Pharyngokokken dieser Familie durch die Sauerstofftoleranz und die Oxydase-reaktion abgrenzen. Sie sind starke Säurebildner und synthetisieren ein jodpositives Polysaccharid (7).

Im Originalpräparat liegen die gramnegativen Kokken in Paaren kaffeebohnenartig zusammen. Die einander zugekehrten Seiten sind abgeplattet.

Das Wachstum der anspruchslosen Bakterien erfolgt aerob unter konstanter Pigmentbildung in dichten sahnartigen Kolonien. Auf Blutagarplatten zeigen die *Neisserien* β -Haemolyse.

Zur Züchtung wurden Blutagarplatten (6-8 % Blut und Peptonagar) verwendet, die im Hygiene-Institut der Universität Würzburg^{x)} hergestellt worden waren.

x) An dieser Stelle sei Frau Dr. Ranke, Hamburg, und Fräulein Maisch, Würzburg, für ihre Bemühungen herzlich gedankt.

V. METHODIK

Die Bakterien des Gefriertrockenpräparates wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, auf Blutplatten überimpft und bei 37°C bebrütet.

Vorversuche sollten die Bedingungen ergeben, bei denen *Neisseria perflava* maximalen Sauerstoffverbrauch und damit maximale Stoffwechselleistungen zeigt.

Bereits nach 12 Stunden Bebrütungszeit auf Blutplatten war ein gutes Wachstum der Bakterien festzustellen. In den Vorversuchen wurden die Stoffwechselleistungen nach einer Bebrütungszeit von 12, 14, 15, 16, 18, 20 und 24 Stunden untersucht. Dabei zeigten die Bakterien zwischen 12 und 16 Stunden Bebrütungszeit maximalen Sauerstoffverbrauch.

Aktivitätsschwankungen innerhalb dieses Zeitraums waren also kaum zu erwarten (58) im Gegensatz zu *Streptokokkus salivarius* (64, 68), der seinen größten Sauerstoffverbrauch nach 15, 5 Stunden Bebrütungszeit unter anaeroben Bedingungen aufwies.

Von den Blutplatten wurden die Bakterien für die Versuchsansätze abgeschwemmt, bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und 2mal 10 Minuten gewaschen. Der Bakterienniederschlag wurde auf 10 ml Lösung aufgefüllt und während 10 Minuten sorgfältig mit dem Potter-Elvehjem-Homogenisator suspendiert. Die Aufschwemmungen der Bakterien erfolgten mit physiologischer Kochsalzlösung.

Der Sauerstoffverbrauch der Bakterien, ein Maß für den aeroben Stoffwechsel (15, 38, 50), wurde in den Versuchsreihen nach der von Warburg entwickelten Methode bestimmt. Zur Verfügung stand das Modell V 85 des Warburg-Apparates der Firma Braun - Melsungen.

Um in den Versuchen eine maximale Fluorwirkung zu erzielen, wurde

grundsätzlich die Fluorlösung vor der Glukoselösung einpipettiert. RUNNSTRÖM und SPERBER (69) stellten nämlich fest, daß die Stoffwechselaktivität von Hefezellen durch niedere Fluorkonzentrationen nicht beeinflußt wird, wenn die Glukosezugabe vor der des Fluors erfolgt. Zum gleichen Ergebnis kam BOREI (11) bei seinen Untersuchungen.

Die Konzentration der Glukoselösung betrug im Ansatz 0,02 M (0,36%). Die maximale Stoffwechselleistung von Bakterien liegt bei einer Glukosekonzentration zwischen 0,25% und 2,0%. Eine 5,0 %ige Glukoselösung bewirkt bereits eine Stoffwechselhemmung der Speichelbakterien (EGGERS-LURA 25).

Zur Absorption des Kohlendioxyds, das bei dem Glukoseabbau unter aeroben Bedingungen entsteht, diente 10 %ige Natronlauge.

a) Manometertechnik

Die Bestimmung der verbrauchten Gasmenge erfolgte nach dem Boyle-Mariotteschen Gesetz, wobei entstehende Volumenveränderungen bei konstantem Druck gemessen werden. In allen Versuchen blieb die Temperatur auf 37°C und die Schüttelfrequenz von 90 Ausschlägen pro Minute bei einer Schüttelamplitude von 2,5 cm konstant. Druckschwankungen durch äußere Luftdruck- und Temperaturunterschiede waren mit Hilfe der Thermobarometer leicht auszugleichen.

b) Lösungen und Versuchsansätze

Lösungen: Veronalpuffer (pH 7) 2,21 g Veronal in 107,2 ml quarzdestilliertem Wasser gelöst und 92,8 ml 0,1 normale HCl 24 Stunden bei +2°C im Kühlraum stehen gelassen. Der Überstand wurde abfiltriert.

Verdünnungsreihen ergaben folgende Lösungen:

Fluoridlösung 10^{-5} M	(Stammlösung 10^{-2} M)
Kupferchloridlösung 10^{-6} N	(Stammlösung 10^{-3} N)
Kupferchloridlösung 10^{-7} N	(Stammlösung 10^{-4} N)

Versuchsanordnungen:

- 1) Kontrollmanometer
1,0 ml Veronalpuffer,
1,5 ml quartzdest. Wasser,
- 2) Reaktionslösung
1,0 ml Veronalpuffer,
0,5 ml quartzdest. Wasser,
0,5 ml Glukoselösung (0,1 M = 0,02 M im Ansatz),
0,5 ml Bakteriensuspension,
- 3) Reaktionslösung + NaF
1,0 ml Veronalpuffer,
0,5 ml NaF (5×10^{-3} M bis 5×10^{-5} M = 10^{-2} M
bis 10^{-5} M im Ansatz),
0,5 ml Glukoselösung,
0,5 ml Bakteriensuspension.
- 4) Reaktionslösung + CuCl_2
1,0 ml Veronalpuffer,
0,5 ml CuCl_2 (5×10^{-3} N bis 5×10^{-7} N = 10^{-3} N
bis 10^{-7} N im Ansatz),
0,5 ml Glukoselösung,
0,5 ml Bakteriensuspension.
- 5) Reaktionsgemisch + NaF + CuCl_2
1,0 ml Veronalpuffer,

0,25 ml NaF (10^{-1} M bis 10^{-4} M = 10^{-2} M bis 10^{-5} M im Ansatz),

0,5 ml CuCl_2 (5mal 10^{-3} N bis 10^{-7} N = 10^{-3} N bis 10^{-7} N im Ansatz),

0,25 ml Glukoselösung,

0,5 ml Bakteriensuspension.

c) Berechnung und Ergebnisse

Die Berechnung der verbrauchten Gasmenge x in $\mu\text{l O}_2$ ergab sich aus der Druckdifferenz in mm Sperrflüssigkeit, korrigiert durch die Werte der Thermobarometer, nach der Formel (78):

$$x \text{ } \mu\text{l O}_2 = k \text{ mal } h \text{ mm Sperrflüssigkeit.}$$

Die unterschiedlichen Volumina der Manometer und der Reaktionsgefäße waren in der Konstanten k berücksichtigt. Gleichzeitig ließen sich durch die Konstante k die Ergebnisse auf Standardbedingungen von 760 mm Hg und 0°C umrechnen. Über Mittelwerte konnte dann die aerob umgesetzte Substratmenge in μMol Glukose angegeben werden.

d) Statistik

Der statistischen Sicherung der Differenz der Mittelwerte lag Signifikanz-t-Test nach FISHER (27) zugrunde. Die Ergebnisse wurden über folgende Formel berechnet:

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$$

$$t = \frac{\sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x}_1)^2}{N_1} + \frac{(x_2 - \bar{x}_2)^2}{N_2}}}{\sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

e) Eichkurve

Der Sauerstoffverbrauch und damit die Stoffwechselaktivität der Bakterien hängt von der Anzahl der lebenden Zellen in der Reaktionssuspension ab. Daher mußte eine Eichkurve aufgestellt werden, um die Ergebnisse auf eine bestimmte Bakterienanzahl beziehen zu können. Die dazu notwendigen nephelometrischen Messungen ließen sich nach dem Lambert-Beerschen Gesetz mit dem PHOTOMETER EPPENDORF durchführen.

Sowohl die Extinktion als auch die Zahl der Bakterienleiber in der Suspension waren in verschiedenen Verdünnungen für die Eichkurve zu bestimmen. Bei allen Messungen der Extinktionen wurde ein Hg-Filter 405 verwendet.

Die Bakterienauszählung erfolgte unter einem Mikroskop mit Hilfe einer THOMA-Zählkammer in Analogie zur Erythrozytenzählung.

Die Bakterienzahl pro mm³ errechnete sich dann nach der Formel:

$$x = \frac{4000 a}{b}$$

x = Bakterienzahl pro mm³,

a = Bakterienzahl pro abgebildetem Quadrat,

b = Anzahl der ausgezählten Quadrate.

Die Werte wurden nach der GAUSSschen Verteilungskurve überprüft.

Ergebnisse der Auszählungen:

Verd.	Ext.	Bakt./mm ³	Verd.	Bakt./mm ³	Susp.
1 : 100	0,530	192000	19,2	x	10 ⁶
1 : 150	0,335				
1 : 200	0,255	86000	17,2	x	10 ⁶
1 : 250	0,210				
1 : 300	0,160	56000	16,8	x	10 ⁶

Die angegebenen Zahlen liegen unter den tatsächlichen Werten, da nur scharf abgebildete Bakterienleiber gezählt wurden. Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde der Sauerstoffverbrauch immer auf die Extinktion $E = 0,100$ umgerechnet.

f) Fehlerquellen

Die Ausführung der Versuche und die Materialbearbeitung zeigten die Grenzen der einzelnen Methoden. Eine kritische Betrachtung soll sich auf die Überwachung und die Verarbeitung der Mikroorganismen erstrecken, da die Versuchsanordnung im WARBURG-Apparat jeweils die gleiche blieb.

Geringe Schwierigkeiten bereitete die Überwachung des Bakterienwachstums auf den Blutplatten. Eine Verunreinigung durch Sarzinen war durch sehr sorgfältiges Überimpfen zu vermeiden.

Zur Überwachung und Vermeidung untragbarer Verunreinigungen durch diese Luftkeime sind regelmäßige Gramfärbungen angefertigt und unter dem Mikroskop überprüft worden.

Eine weitere Schwierigkeit bereitete die Gewinnung einer agarfreien Bakteriensuspension. Alleiniges Abspülen der Bakterien von den Blutplatten zeigte ein unbefriedigendes Ergebnis. Beim Abschaben der Bakterienrasen war es trotz großer Genauigkeit oftmals nicht

zu vermeiden, daß Agarfetzen in die Bakterienaufschwemmung gelangten und so die Nephelometriewerte beeinträchtigten.

Eine Fehlerquelle ergab sich bei der Bestimmung der Bakterienzahl. Infolge einer verhältnismäßig großen Schichtdicke der Suspension war eine vollständige Erfassung aller Bakterien nicht möglich.

Ein weiterer, jedoch geringer Fehler bei der geschilderten Versuchsdurchführung entstand beim Homogenisieren der Bakterien-suspension. Selbst durch sorgfältiges Homogenisieren gelang es nicht, eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien in der Lösung zu erreichen. Auf diese Art wurde unabhängig von den Schwankungen in der Stoffwechselaktivität der Bakterien das Ergebnis des Substratum-satzes durch unterschiedliche Bakterienzahlen beeinflusst.

Auch beim Pipettiervorgang ließen sich durch quantitative Fehler Schwankungen nicht ganz ausschalten.

Durch die Schwankungen in der Stoffwechselaktivität ließen sich die Unterschiede der Versuchseinzelwerte statistisch nicht immer sichern. Eine Aussage über die Versuchsergebnisse in absoluten Werten war deshalb beim Vergleich zweier Versuchsreihen gegenüber Angaben in Prozentzahlen unterlegen.

VI. ERGEBNISSE

Vorversuche über den Glukoseabbau pro Zeiteinheit durch *Neisseria perflava* ergaben einen gleichmäßigen Substratumsatz während einer Stunde Inkubationszeit (Tabelle 1). Der Sauerstoffverbrauch war alle 15 Minuten zu messen. Die Mittelwerte wurden aus je 8 Versuchsreihen gebildet.

Der Sauerstoffverbrauch nach 15 Minuten in der Höhe von 32,6 $\mu\text{l O}_2$ fiel in den zweiten 15 Minuten der Inkubationszeit auf 30,0 $\mu\text{l O}_2$. In den dritten 15 Minuten erreichte er wieder 33,4 $\mu\text{l O}_2$, und der vierte 15 Minuten-Wert betrug 32,8 $\mu\text{l O}_2$.

Der mittlere Sauerstoffverbrauch in 15 Minuten lag bei 32,2 $\mu\text{l O}_2$. Davon wichen die Einzelwerte der Versuche nur geringfügig ab.

Tabelle 1: Glukoseverbrauch von *Neisseria perflava* pro Zeiteinheit:

Vers.	erste 15 Min	zweite 15 Min	dritte 15 Min	vierte 15 Min
1	34,0	32,0	33,0	32,0
2	33,0	32,0	32,0	34,0
3	39,0	32,0	38,0	36,0
4	33,0	28,0	34,0	32,0
5	33,0	28,0	34,0	32,0
6	29,0	27,0	31,0	30,0
7	29,0	30,0	33,0	34,0
8	30,0	30,0	32,0	32,0
Mittelwert	32,6	30,0	33,4	32,8
Abweichung	1,2%	6,0%	3,6%	1,7%

In der ersten Versuchsreihe wurde die Einwirkung von verschiedenen

Natriumfluoridkonzentrationen auf den Glukoseabbau von *Neisseria perflava* gemessen. Verglichen wurden dabei die Mittelwerte des Glukoseumsatzes ohne Fluorzugabe und die Mittelwerte des Glukoseumsatzes nach Fluorzugabe. Die Prozentangaben beziehen sich dabei jeweils auf den Substratumsatz ohne NaF-Zugabe (Tabelle 2).

Es zeigte sich eine hemmende Wirkung der Fluorionen auf den Substratumsatz bei den Konzentrationen 10^{-2} M ($\approx 11,1\%$) und 10^{-3} M ($\approx 6,3\%$). Eine Glukoseumsatzsteigerung ergab sich bei den Konzentrationen 10^{-4} M ($\approx 2,4\%$) und 10^{-5} M ($\approx 6,1\%$).

In der zweiten Versuchsreihe wurde die Stoffwechselbeeinflussung von *Neisseria perflava* einmal unter Einwirkung von Kupferionen allein (Tabelle 3) und zum anderen durch Zusätze von Fluorionen und Kupferionen zur gleichen Zeit untersucht (Tabelle 4, 5, 6, 7). Die Angaben beziehen sich wieder auf die Mittelwerte, die Prozentangaben auf das Reaktionsgemisch ohne Zusätze.

Die Hemmung des Glukoseabbaus durch Kupferchlorid ist bei einer Konzentration von 10^{-4} N am stärksten und fällt bis auf 10,5% bei einer Konzentration von 10^{-5} N, und ändert sich bis zur 10^{-7} normalen Lösung nur noch geringfügig (Tabelle 3).

Beim Zusatz von Natriumfluorid in den Konzentrationen 10^{-2} M bis 10^{-5} M zu dem Reaktionsgemisch mit Kupferchlorid-Zugaben zeigten sich keine wesentlichen Abweichungen von der Hemmwirkung der Kupferionen allein. Die Abweichungen lagen immer unter 5 %, bezogen auf das Reaktionsgemisch ohne Zusätze (Tabelle 4, 5, 6, 7).

Eine Aufhebung der Hemmwirkung durch Kupferionen war also nicht zu beobachten.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von 99% ließen sich nur 2 Versuchsanordnungen in ihren Unterschieden statistisch sichern. Die Unterschiede im Substratumsatz bei Zugabe einer 10^{-4} N CuCl_2 -Konzentration allein und einer 10^{-4} N CuCl_2 -Konzentration bei gleichzeitiger Zugabe

von NaF in den Konzentrationen 10^{-2} M bis 10^{-5} M konnte statistisch gesichert werden.

Bei allen anderen Ergebnissen waren die Unterschiede nicht signifikant.

M_1 = Mittelwert in $\mu\text{O}_2 / \text{h} / \text{ml}$ Bakteriensuspension

M_2 = Mittelwert in $\mu\text{Mol} / \text{h} / \text{ml}$ Bakteriensuspension

H = Hemmung in %-Angaben bezogen auf das Reaktionsgemisch ohne Zusätze

t = t-Wert nach FISHERs Signifikanz-t-Test. Die Werte beziehen sich jeweils auf den Unterschied zu den Ergebnissen mit dem Reaktionsgemisch ohne Zusätze

+

= Statistischer Unterschied mit 99% Wahrscheinlichkeit gesichert

-

= Kein signifikanter Unterschied

Alle Sauerstoff- und Glukosewerte sind auf die Extinktion $E = 0,100$ bezogen.

Tabelle 9: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Natriumfluoridzusatz in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu\text{Mol/h/Bak-erientsuspension}$).

Lfd. Nr.	Reakt. - Gemisch	Reakt.-Gem. + NaF 10^{-2}M	Reakt.-Gem. + NaF 10^{-3}M	Reakt.-Gem. + NaF 10^{-4}M	Reakt.-Gem. + NaF 10^{-5}M
1	99,87	92,24	97,83	100,35	104,16
2	97,18	93,39	101,67	104,12	104,66
3	71,88	62,68	60,44	67,77	74,61
4	103,28	99,77	100,28	109,40	108,38
5	93,81	85,09	88,88	96,95	98,78
6	100,84	89,65	90,95	103,12	109,11
7	93,88	85,34	87,75	96,89	99,88
8	108,28	85,91	97,41	114,18	115,67
9	92,65	79,03	82,06	89,01	98,85
M_1	95,71	85,12	89,70	97,98	101,57
M_2	0,71	0,63	0,67	0,73	0,76
H		-11,1%	-6,3%	+2,4%	+6,1%
t		2,152	1,103	0.402	1,149
		-	-	-	-

Tabelle 3: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Kupferchloridzusatz in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu\text{Mol/h/ml}$ Bakteriensuspension).

Lfd. Nr.	A	B	C	D	E
1	149,83	-	9,34	69,79	145,27
2	139,57	-	16,82	65,47	132,22
3	110,81	-	8,72	56,50	97,56
4	109,87	-	6,02	64,24	95,90
5	102,29	-	14,59	60,72	93,07
6	102,94	-	8,39	70,20	99,56
M_1	119,22	-	10,65	64,49	110,60
M_2	0,89	-	0,08	0,48	0,82
H		100,0%	91,1%	45,9%	7,3%
t			12,835	6,371	0,700
			+	+	-

A = Reaktionsgemisch

B = Reaktionsgemisch + 10^{-2} N CuCl_2

C = Reaktionsgemisch + 10^{-3} N CuCl_2

D = Reaktionsgemisch + 10^{-4} N CuCl_2

E = Reaktionsgemisch + 10^{-5} N CuCl_2

Tabelle 4: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Zusatz von CuCl_2 10^{-4} N und bei kombiniertem Zusatz von CuCl_2 10^{-4} N mit NaF 10^{-2} M bis 10^{-5} M in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu\text{ Mol/h/ml}$ Bakteriensuspension).

Lfd. Nr.	A	B	C	D	E	F
1	91, 52	16, 41	-	17, 57	13, 41	14, 97
2	89, 95	25, 14	23, 14	18, 71	17, 59	17, 27
3	112, 66	10, 10	5, 88	8, 62	6, 02	5, 96
4	136, 53	28, 44	24, 21	20, 62	27, 25	21, 19
M_1	107, 67	20, 02	17, 74	16, 39	16, 07	14, 85
M_2	0, 80	0, 15	0, 13	0, 12	0, 12	0, 11
H		81, 4%	83, 5%	84, 8%	85, 1%	86, 2%
t		7, 497	6, 491	8, 115	7, 770	8, 145
		+	+	+	+	+

A = Reaktionsgemisch

B = Reaktionsgemisch + CuCl_2 10^{-4} N

C = Reaktionsgemisch + CuCl_2 10^{-4} N und NaF 10^{-2} M bis 10^{-5} M

D = Reaktionsgemisch + CuCl_2 10^{-4} N und NaF 10^{-2} M bis 10^{-5} M

E = Reaktionsgemisch + CuCl_2 10^{-4} N und NaF 10^{-2} M bis 10^{-5} M

F = Reaktionsgemisch + CuCl_2 10^{-4} N und NaF 10^{-2} M bis 10^{-5} M

Tabelle 5: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ und bei kombiniertem Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ mit $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu\text{ Mol/h/ml}$ Bakteriensuspension).

Lfd. Nr.	A	B	C	D	E	F
1	65,78	-	53,96	61,35	63,09	65,75
2	78,27	68,95	61,51	69,13	71,12	69,01
3	98,50	85,88	97,69	87,79	89,38	86,94
4	92,56	75,62	84,82	80,70	84,84	82,03
5	77,75	68,28	72,20	72,52	72,79	72,74
6	65,54	65,68	-	60,80	64,17	63,88
7	87,66	75,91	78,59	72,28	69,50	77,51
8	90,86	74,41	77,95	81,91	79,82	83,56
9	116,73	96,97	105,46	99,46	95,50	94,81
10	98,85	91,02	105,53	101,14	92,16	101,29
M_1	87,25	78,08	81,98	78,71	78,24	79,75
M_2	0,65	0,58	0,61	0,58	0,58	0,59
H		10,5%	6,0%	9,8%	10,3%	8,6%
t		1,447	0,674	1,263	1,437	1,171
		-	-	-	-	-

A = Reaktionsgemisch

B = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$

C = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2}$ bis 10^{-5} M

D = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

E = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

F = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-5} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

Tabelle 6: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ und bei kombiniertem Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ mit $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu \text{ Mol/h/ml}$ Bakteriensuspension¹)

Lfd. Nr.	A	B	C	D	E	F
1	84, 92	86, 72	-	87, 76	83, 80	89, 47
2	82, 05	78, 28	81, 32	84, 77	81, 66	79, 59
3	89, 96	88, 90	90, 32	91, 37	92, 56	94, 20
4	82, 37	82, 67	82, 41	78, 86	79, 29	80, 05
5	87, 34	83, 94	84, 55	82, 53	81, 59	80, 91
6	85, 25	86, 34	84, 77	83, 30	83, 69	83, 58
7	83, 82	79, 83	88, 91	85, 86	85, 28	84, 41
8	78, 93	79, 57	80, 38	79, 06	78, 82	82, 17
9	90, 73	80, 23	90, 89	87, 43	82, 92	86, 10
10	70, 10	71, 93	75, 38	64, 82	70, 58	73, 13
11	74, 76	70, 01	74, 38	69, 76	67, 55	72, 44
M_1	82, 75	80, 77	83, 32	81, 41	80, 70	82, 37
M_2	0, 62	0, 60	0, 62	0, 61	0, 60	0, 61
H		-2, 4%	+1, 0%	-1, 7%	-2, 5%	-0, 5%
t		0, 765	0, 216	0, 439	0, 735	0, 141
		-	-	-	-	-

A = Reaktionsgemisch

B = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$

C = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

D = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

E = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

F = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-6} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

Tabelle 7: Stoffwechselaktivität von *Neisseria perflava* ohne und mit Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ und bei kombiniertem Zusatz von $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ mit $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M in Sauerstoffverbrauch ($\mu\text{l O}_2/\text{h}$) bzw. umgesetzter Glukose ($\mu \text{ Mol/h/ml}$ Bakteriensuspension).

Lfd. Nr.	A	B	C	D	E	F
1	97,85	90,80	79,51	96,95	93,82	94,53
2	98,13	93,36	81,48	95,38	99,39	94,31
3	104,10	96,40	98,36	102,06	105,60	106,58
4	107,85	102,01	112,35	110,89	102,26	102,74
5	113,05	104,49	113,83	108,40	106,70	107,64
6	106,44	100,21	106,39	102,38	103,34	99,38
7	120,91	108,76	106,02	106,28	115,68	112,54
8	113,04	109,20	108,00	119,90	123,68	108,10
9	105,78	99,48	96,58	102,72	104,14	100,02
M_1	107,47	100,52	100,28	105,00	106,07	102,87
M_2	0,80	0,75	0,75	0,78	0,79	0,77
H		6,5%	6,7%	2,3%	1,4%	4,3%
t		2,135	1,461	0,704	0,425	1,424
		-	-	-	-	-

A = Reaktionsgemisch

B = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$

C = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

D = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

E = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

F = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-7} \text{ N}$ und $\text{NaF} \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 10^{-5} M

Extinktion

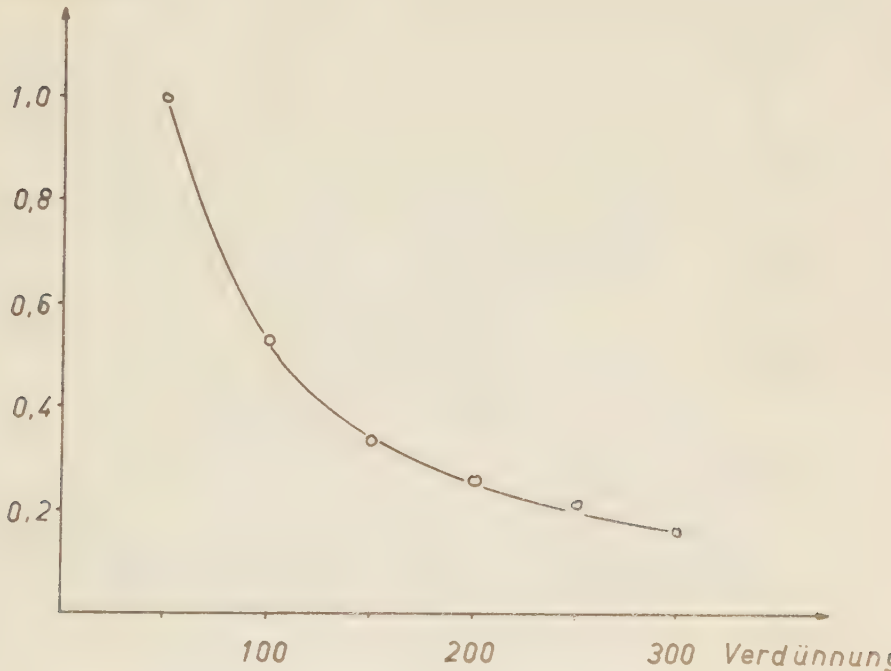


Abbildung 1

Beziehung zwischen Extinktion und Verdünnung der Bakterien-
suspension (Trübungsmessung mit Hg-Filter 405).

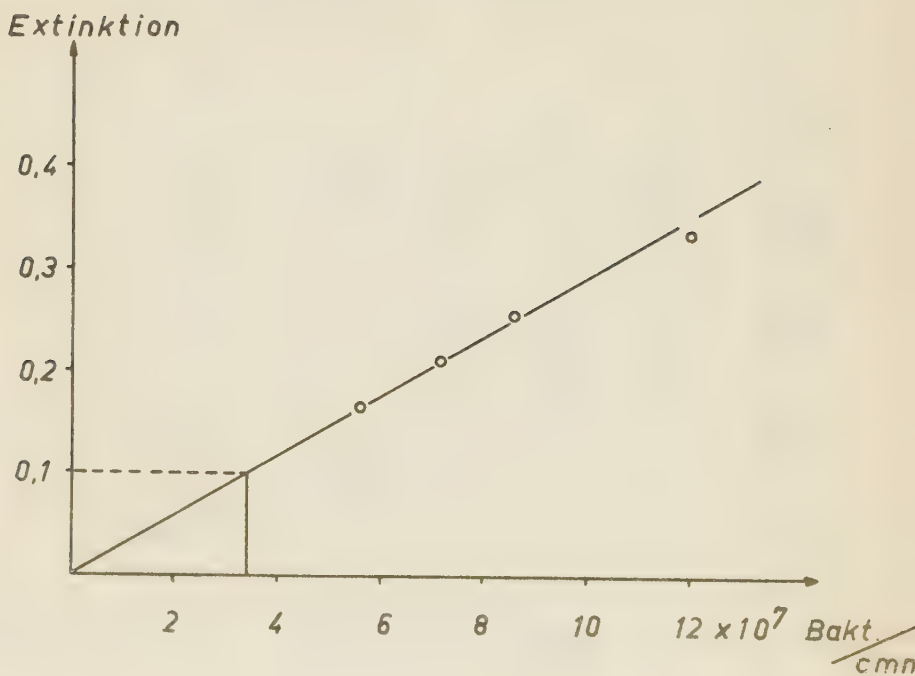


Abbildung 2

Bakterienzahl und Extinktion.

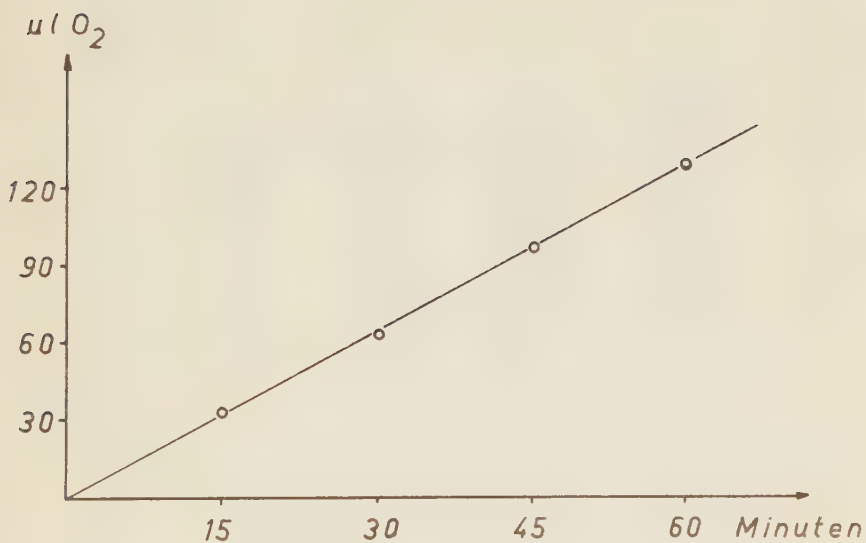


Abbildung 3a

Sauerstoffverbrauch von *Neisseria perflava* pro ml Bakterien-
suspension während einer Stunde.

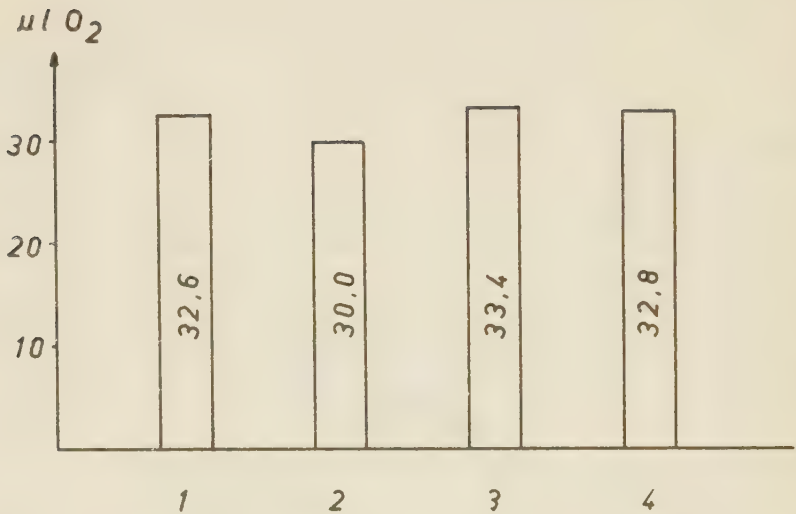


Abbildung 3b:

Sauerstoffverbrauch von *Neisseria perflava*.

- 1 = während der ersten 15 Minuten Inkubationszeit,
- 2 = während der zweiten 15 Minuten Inkubationszeit,
- 3 = während der dritten 15 Minuten Inkubationszeit,
- 4 = während der vierten 15 Minuten Inkubationszeit.

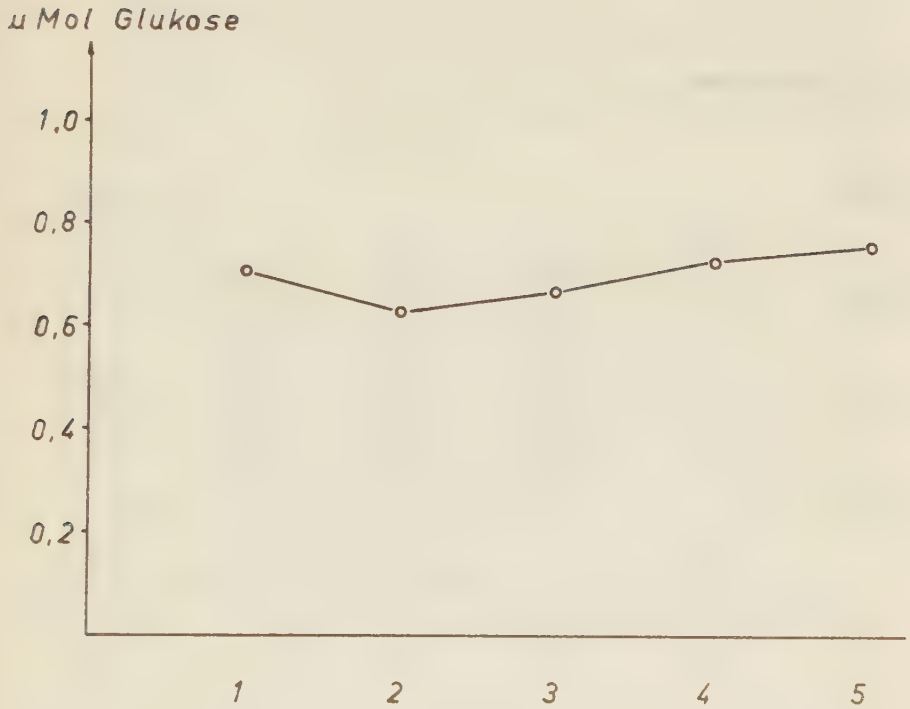


Abbildung 4a

Aerober Glukoseumsatz von *Neisseria perflava* in 60 Minuten
pro ml Bakteriensuspension.

- 1 = Reaktionsgemisch,
- 2 = Reaktionsgemisch + 10^{-2} M NaF,
- 3 = Reaktionsgemisch + 10^{-3} M NaF,
- 4 = Reaktionsgemisch + 10^{-4} M NaF,
- 5 = Reaktionsgemisch + 10^{-5} M NaF.

$\mu\text{Mol Glukose}$

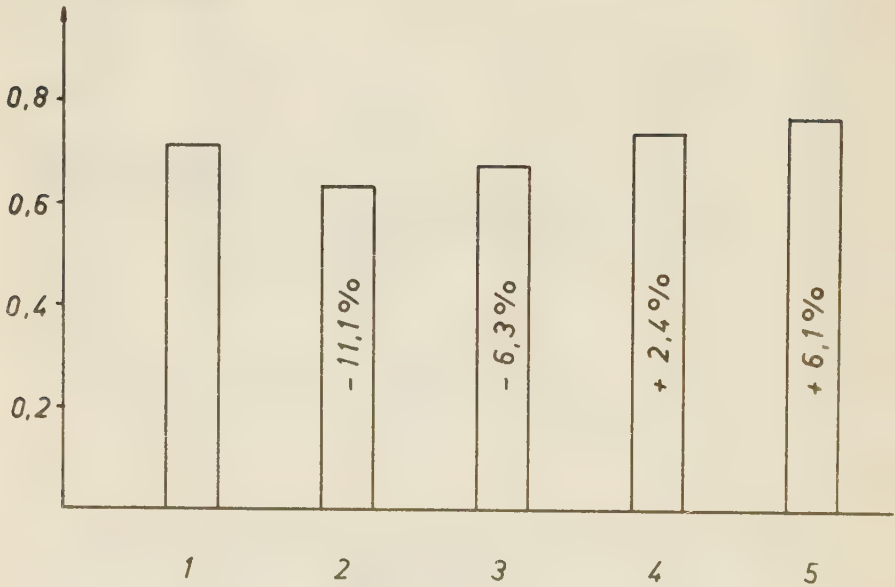
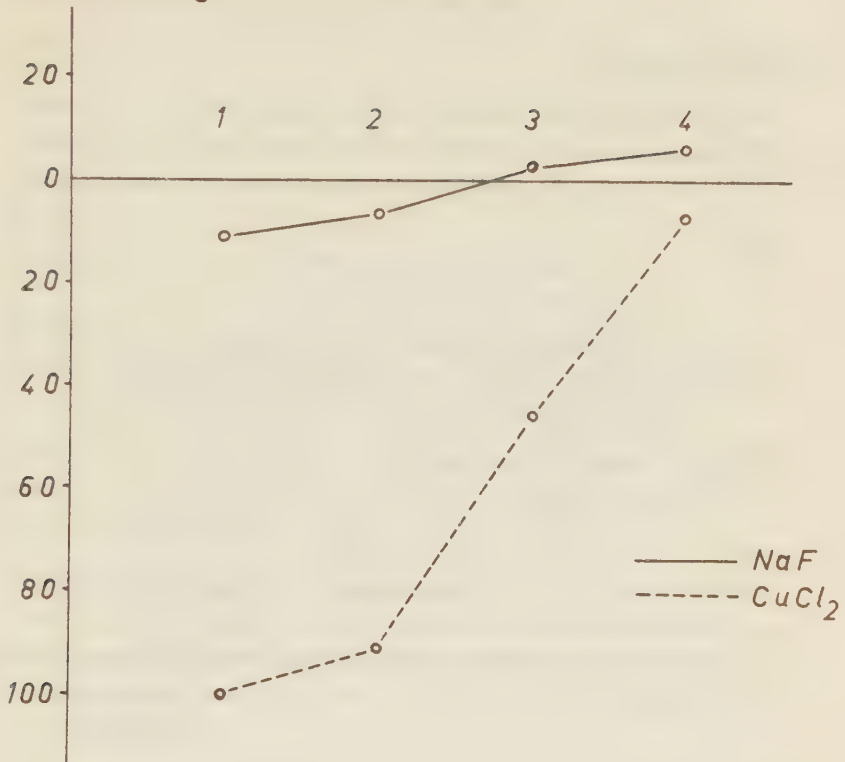


Abbildung 4b

Aerober Glukoseumsatz von *Neisseria perflava* in 60 Minuten
pro ml Bakteriensuspension.

- 1 = Reaktionsgemisch,
- 2 = Reaktionsgemisch + 10^{-2} M NaF,
- 3 = Reaktionsgemisch + 10^{-3} M NaF,
- 4 = Reaktionsgemisch + 10^{-4} M NaF,
- 5 = Reaktionsgemisch + 10^{-5} M NaF.

% Aktivierung

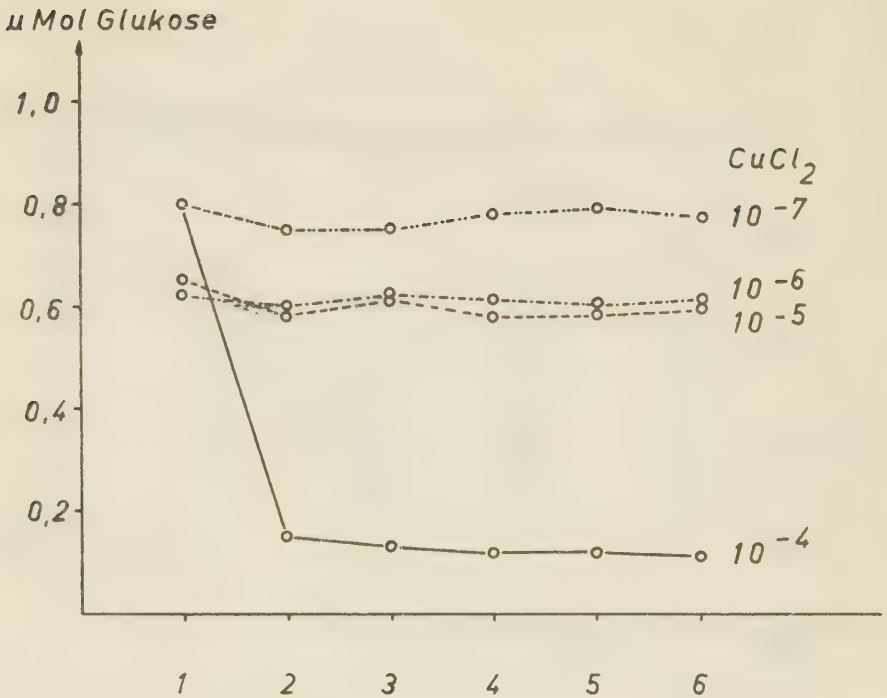


% Hemmung

Abbildung 5

Sauerstoffverbrauch von *Neisseria perflava* bei Zusatz von NaF und CuCl₂ in 60 Minuten pro ml Bakteriensuspension in Prozentangaben.

- 1 = Reaktionsgemisch + 10^{-2} M NaF bzw. 10^{-2} N CuCl₂,
- 2 = Reaktionsgemisch + 10^{-3} M NaF bzw. 10^{-3} N CuCl₂,
- 3 = Reaktionsgemisch + 10^{-4} M NaF bzw. 10^{-4} N CuCl₂,
- 4 = Reaktionsgemisch + 10^{-5} M NaF bzw. 10^{-5} N CuCl₂.



Abbildung

Aerober Glukoseumsatz von *Neisseria perflava* in 60 Minuten pro ml Bakteriensuspension.

1 = Reaktionsgemisch,

2 = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-4}$ N bis 10^{-7} N,

3 = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-4}$ N bis 10^{-7} N + 10^{-2} M NaF,

4 = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-4}$ N bis 10^{-7} N + 10^{-3} M NaF,

5 = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-4}$ N bis 10^{-7} N + 10^{-4} M NaF,

6 = Reaktionsgemisch + $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-4}$ N bis 10^{-7} N + 10^{-5} M NaF.

VII. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Fluor- und Kupferionen einzeln und kombiniert auf den Stoffwechsel von *Neisseria perflava* (Stamm A 2) unter aeroben Versuchsbedingungen untersucht.

a) Material und Methodik

Um die Ergebnisse richtig beurteilen zu können, müssen die auftretenden Fehler nach Form und Umfang berücksichtigt werden.

Die Differenz der ermittelten Werte kann durch Veränderungen der Bakteriensuspension selbst oder durch unterschiedliche Stoffwechselaktivität der Bakterien beeinflußt werden.

Eine Voraussetzung für eine gleiche Stoffwechselleistung der Bakterien in den Versuchsreihen ist die Reinheit der Bakterienkultur. Durch mikroskopische Routineuntersuchungen von eingefärbten Kontrollpräparaten konnten Verunreinigungen durch apathogene Luftkeime ausgeschlossen werden.

Geringen Einfluß auf die Stoffwechselschwankungen dürfte das phasenmäßige Wachstum der Bakterien ausüben, da im Gegensatz zu *Streptococcus salivarius* (PATZ 64, RASCHKA 68) *Neisseria perflava* während 12 bis 16 Stunden Bebrütungszeit keinen unterschiedlichen Sauerstoffverbrauch zeigte (OEHLSCHLÄGER 58).

Eine Verzögerung im Wachstum während der "lag-Periode" (THIMANN 75) wie bei *Streptococcus salivarius* (58, 64, 68) ist ebenfalls auszuklammern, weil die Bakterien in den entsprechenden Zeiträumen nicht in ein zweites Nährmedium übertragen wurden.

Eine wesentlich größere Beeinflussung der Ergebnisse erwächst aus dem Verhalten der Bakterien selbst. Da die Bakterien zur Agglutina-

tion neigen (BIBBY und MAURER 9), kann dadurch die stoffwechselaktive Oberfläche verkleinert werden. So ergaben die Untersuchungen von WILLIAMS und EICKENBERG (84) eine zehnfach höhere Koloniezahl im Speichel, nachdem die Speichelproben mit Ultraschall behandelt worden waren; und CROWLEY und RICKERTS (24) erreichten durch Zerstäuben einer Bakteriensuspension bis zu 36 % mehr Keimzahlen.

Um die Zahl der agglutinierten Teilchen zu vermindern, wurde jeweils der gleiche Homogenisator bei gleicher Verarbeitungszeit verwendet. Dabei war die Möglichkeit einer Zellschädigung und damit der Ausfall von ganzen Fermentsystemen nicht auszuschließen, so daß bei diesen Bakterien die Stoffwechselleistungen verringert waren.

Über die Trübungsmessung ist ein Ausgleich oder eine Verringerung des Fehlers nicht zu erreichen, weil mit Hilfe der Nephelometrie die Bakterienleiber nur quantitativ erfaßt werden. Gleichzeitig können auch kleinste Agarfetzen als Verunreinigung der Suspension neben den toten Bakterienkörpern den Nephelometriewert beeinflussen. Ein geringer Substratumsatz bei einem hohen Extinktionswert ist die Folge.

b) Ergebnisse

In den Untersuchungen über die Ursache der Karies erwiesen sich, wie schon angeführt, besonders die niedermolekularen Kohlenhydrate als kariogene Faktoren. Die Verweildauer dieser Zucker in der Mundhöhle beziehungsweise ihre Eliminationsgeschwindigkeit aus der Mundhöhle sind daher im Rahmen des kariösen Geschehens von großer Bedeutung.

Die Zuckerelimination hängt neben der Spülwirkung des Speichels von der Stoffwechselleistung der gesamten Mikroflora der Mundhöhle ab,

da die Bakterien unter aeroben und anaeroben Bedingungen Kohlenhydrate abbauen können. Die Mundhöhlenbakterien enthalten mit Ausnahme der Amylase, die mit dem Speichel sezerniert wird, alle Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels. Daher ist eine Einwirkung auf die enzymatischen Vorgänge nach dem Embden-Meyerhof-Schema in der Mundhöhle besonders leicht durch Enzymgifte wie Blausäure, Kohlenmonoxyd oder Schwermetallionen möglich (18).

Die Schwermetallionen Hg^{2+} und Cu^{2+} kommen in geringen Konzentrationen im Speichel vor (WARBURG 81). Hohe Konzentrationen sind aber nach Legen von Amalgamfüllungen im Speichel nachzuweisen (KÜHL 41, RANKE 67). Damit ist eine Stoffwechselbeeinflussung durch diese Schwermetallionen ohne weiteres gegeben.

SHEPPARD (72) untersuchte den Einfluß von reinen Metallen und Metallverbindungen auf das Wachstum der Mikroorganismen in der Mundhöhle. Dabei stellte er eine völlige Wachstumshemmung bei allen Bakterien durch Kupfer- und Quecksilberionen fest.

RANKE (67) dagegen untersuchte die Glykolyse im menschlichen Speichel bei Einwirkung von Schwermetallionen und ermittelte eine Hemmung des Zuckerabbaus durch Kupferionen bis zu 86 %. Auch NAUJOKS und Mitarb. (53) wiesen nach, daß die Säureproduktion im Speichel durch Metallfüllungen gehemmt werden kann. Hierbei war die Hemmung abhängig von der Füllungszahl und Füllungsgröße. Eine Hemmung des Glukoseumsatzes durch Hg^{2+} -Ionen aber war nach BRAMSTEDT und Mitarb. (13) im Speichel und bei hieraus isolierten Bakterien durch niedere Fluordosen aufzuheben.

Vergleicht man das Verhalten von *Neisseria perflava* mit diesen Ergebnissen, so ist in Analogie zu den Untersuchungen von BRAMSTEDT und Mitarb. eine Stoffwechselhemmung durch Fluorionen in den Konzentrationen 10^{-2} M und 10^{-3} M festzustellen. Dagegen führten bei den Speichelbakterien Fluoridlösungen in den Konzentrationen 10^{-4} M und 10^{-5} M zu einer Aktivierung des Glukoseumsatzes.

In RANKEs (67) Versuchsanordnung bewirkten Kupferionen im Speichel eine Hemmung der Glykolyse bis zu 86 %. Mit dieser Erkenntnis stehen die vorliegenden Ergebnisse im Einklang. Kupferionen hemmten in allen Konzentrationen die Stoffwechselleistung von *Neisseria perflava*. Im einzelnen betrugen die ermittelten Werte bei einer CuCl_2 -Lösung 10^{-2} N eine 100%ige Hemmung, eine 10^{-3} N CuCl_2 -Ionenlösung verminderte den Glukoseumsatz um 91,3 %. Eine CuCl_2 -Lösung in der Konzentration 10^{-4} N setzte die Stoffwechselleistung um 45,9 %, aber auch um 81,4 % herab. Eine CuCl_2 -Lösung verringerte in der Konzentration 10^{-5} N den Substratumsatz noch um 7,9 %. Auch geringere Kupferionenkonzentrationen zeigten noch eine hemmende Wirkung.

Die Stoffwechselbeeinflussung von *Neisseria perflava* durch Kupferionen unterschied sich von der durch Quecksilberionen (PFEIFLE 66). Während die Empfindlichkeit von *Neisseria perflava* gegenüber Quecksilberionen sprunghaft anstieg, ließ sich keine eindeutige Aussage über den Verlauf einer "Kupferkurve" zwischen den Konzentrationen 10^{-3} N und 10^{-5} N treffen. Die Hemmwirkung der Kupferionenkonzentration 10^{-4} N schwankte zwischen 45,9 % und 81,4 %.

Diese Wirkung der Kupferionen auf den Stoffwechsel der Bakterien ließ sich nur geringfügig durch Fluorzugaben beeinflussen. Eine Aktivierung des Substratumsatzes durch Fluorionen allein wurde aber von Kupferionen aufgehoben.

Ordnet man diese Ergebnisse in das bisher bekannte Bild der Fluorprophylaxe ein, so ergeben sich nachstehende Schlußfolgerungen:

Im Speichel wird der Glukoseumsatz der aerob wachsenden Bakterien *Neisseria perflava* durch geringe Fluoridkonzentrationen erhöht. Bei Anwesenheit von Schwermetallionen, insbesondere Kupferionen, die aus Metallfüllungen (Cu-Amalgam) herausgelöst werden können, wird die "oral-sugar-clearance-time" verlängert. Es erfolgt über längere Zeit ein größeres Zuckerangebot an die Plaquesbakterien. Die kariesreduktive Fluorwirkung im Speichel wird dadurch herabgesetzt.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Mit Hilfe der Warburg-Methode wurde der Glukoseabbau von *Neisseria perflava* (Stamm A 2) unter aeroben Versuchsbedingungen bei Zusatz von Fluor- und Kupferionen untersucht.
- 2) NaF in Konzentrationen 10^{-2} M und 10^{-3} M hemmt den Glukoseabbau von *Neisseria perflava* um 11,1 % bzw. 6,3 %.
- 3) NaF in den Konzentrationen 10^{-4} M und 10^{-5} M aktiviert den Glukoseabbau von *Neisseria perflava* um 2,4 % bzw. 6,1 %.
- 4) Kupferionen bewirken bei Konzentrationen von 10^{-2} N eine 100 %ige, bei 10^{-3} N eine 91,3 %ige, bei 10^{-4} N eine 45,9 %ige und bei 10^{-5} N eine 7,9 %ige Hemmung.
- 5) Bei Kombination von NaF (10^{-2} M bis 10^{-5} M) und CuCl_2 (10^{-4} N bis 10^{-7} N) konnte keine Aktivierung des durch Kupferionen gehemmten Glukoseabbaus von *Neisseria perflava* beobachtet werden.
- 6) Die Veränderungen der Stoffwechselleistungen von *Neisseria perflava* bei Fluor- und Schwermetallionenzusatz wurden diskutiert und ihre Beziehungen zur Fluorprophylaxe erörtert.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ADLER, P. : Über die Beziehung zwischen Zahnkaries und Fluoriden
Verlag Joh. Ambrosius Barth, Leipzig
(1950)
2. ARMSTRONG, W. D. : Mechanisms of Fluoride Homeostasis
Arch. Oral. Biol. Special Supplement 4,
156-159 (1961)
3. BAUME, L. J. : Gegenwärtiger Stand der Fluorforschung
in den Vereinigten Staaten
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 10, 278-288 (1955)
4. BELDING, P. H. and
BELDING, L. J. : Method of Acting of Sucrose in Causing
Caries Acuta
Dent. Items. Brooklyn 70, 421-425 (1948)
5. BELDING, P. H. and
BELDING, L. J. : The Oral Streptococci and their Differen-
tiation
Dent. Items. Brooklyn 70, 636-640 (1948)
6. BERGER, U. : Mikrobiologie der Mundhöhle
Verlag Urban u. Schwarzenberg, München
(1955)
7. BERGER, U. und
HUMMEL, K. : Einführung in die Mikrobiologie und
Immunologie
Verlag Urban u. Schwarzenberg, München
(1964)
8. BIBBY, G. V. und
van KESTEREN, M. : Acid Production by Oral Streptococci and
Lactobacilli
J. Dent. Res. 18, 266-267 (1939)
9. BIBBY, B. G. and
MAURER, D. W. : Bacterial Counts in Salvia
J. Dent. Res. 20, 258 (1941)
10. BINDER, K. : Caries Frequency and Fluorosis in Mall-
nitz and the Valley of Ötz
Arch. Oral. Biol. Special Supplement 6,
198-202 (1961)
11. BOREI, M. : Zur endogenen Atmung und Gärung der
Oberhefe I. Verhalten der Atmung gegen
Fluorid und Azid
Biochem. Z. 312, 160 (1942)

12. BRAMSTEDT, F., KRÖNCKE, A., NAUJOKS, R. und VONDERLINN, R. : Biochemische Speicheluntersuchungen IV. Die Verbrennung organischer Substrate im Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 9, 782-791 (1954)
13. BRAMSTEDT, F., KRÖNCKE, A. und NAUJOKS, R. : The Physiological Effect of Low Dosis of Fluorine
J. Dent. Belge 6, 373-390 (1958)
14. BRAMSTEDT, F., KRÖNCKE, A. und NAUJOKS, R. : Über ein den Kohlenhydratabbau aktivierendes Prinzip im menschlichen Speichel
Naturwiss. 44, 331 (1957)
15. BRAMSTEDT, F., KRÖNCKE, A. und NAUJOKS, R. : Über den Einfluß niedriger Fluorkonzentrationen auf den Kohlenhydratabbau im Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen
Prophyl. Med. 1, 36-39 (1957)
16. BRAMSTEDT, F. und NAUJOKS, R. : Biochemische Kariesforschung an der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Hamburg seit 1949
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 17, 867-880 (1962)
17. BRAMSTEDT, F., NAUJOKS, R. und BENEDICT, I. : "Oral Sugar Clearance" und Fermentaktivität im menschlichen Speichel
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 18, 242-249 (1963)
18. BRAMSTEDT, F. und VONDERLINN, R. : Biochemische Speicheluntersuchungen II. Die Sauerstoffaufnahme des Speichels und ihre Beziehung zur Zahnkaries
Zahnärztl. Welt 22, 505-509 (1952)
19. BRUDEVOLD, F., MESSER, A. and AMDUR, B. H. : Factors Involved in Remineralisation of Carious Lesions
Proc. 8th Conf. O. R. C. A. (1961)
20. BRUDEVOLD, F. and MESSER, A. : Seeding Effect of HA in Calcifying Solutions Containing Different Levels of Fluoride
J. Dent. Res. 40, 728 (1961)
21. CREMER, H. D. : Arbeitsbericht Team II (Dosierungsteam)
Communications du 5^{ème} Congrès de ORCA
publié par
J. Dent. Belge 98-106 (1958)

22. CREMER, H.D. : Experimentelle Karies und Fluor
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 10, 302-306 (1955)
23. CREMER, H.D. : Karies bei Mensch und Tier; ein Vergleich
Odont. Revy 8, 225-239 (1957)
24. CROWLEY, C. M. and RICKERTS, U. G. : Method for Estimating Bacterial Content
of Mouth by Direct Count
J. Dent. Res. 15, 169-170 (1935)
25. EGGERS-LURA, H. : Neue Perspektiven und Richtlinien in der
biochemischen Kariesforschung
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 19, 133-139 (1964)
26. FENN, W. O. : The Deposition of Potassium and Phosphate
with Glycogen in Rat Livers
J. Biol. Chem. 128, 297 (1938)
27. FISHER, R. A. : In HODGMAN, C. D., WEAST, R. C., SELBY,
S. M.
Handbook for Chemistry and Physics
The Chemical Rubber Publishing Co.,
Cleveland, Ohio 1963
28. FITZGERALD, R. J. and KEYES, P. H. : Demonstrations of the Etiologic Role of
Streptococci in Experimental Caries in the
Hamster
J. Amer. Dent. Ass. 61, 9-19 (1960)
29. GUSTAFSON, G., STELLING, E., ABRAMSON, E. and
BRUNIUS, E. : Experimental Dental Caries in Golden
Hamsters IX. The Effect of Cariogenic Diet
Fed at Intervals.
Arch. Oral. Biol. 1, 42-47 (1959)
30. GUSTAFSSON, B. E., QUENSEL, C. E., LANKE, L. S.,
LUNDQUIST, C., GRAHNEN, H., BONOW, B. and
KRASSE, B. : The Vipeholm Dental Caries Study;
the Effect of Different Levels of Carbo-
hydrate Intake on Caries Activity in
436 Individuals observed for Five Years
Acta Odont. Scand. 12, 232-364
(1954)
31. HARDWICK, J. L. : The Fluoride Content of the Plaque;
Its Possible Antienzymatic Action
Caries Symposion Zürich, Verlag Hans
Huber, Bern 112-117 (1961)

32. HELD, A. J. : Erfahrungen und Probleme der Wasser-fluoridierung
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 10, 271-278 (1955)
33. JENKINS, G. N. : Anticaries Mechanism of Fluorides in Dentifrices
Caries Symposion Zürich, Verlag Hans Huber, Bern, 104-111 (1961)
34. KEYES, P. H. : Recent Advantages in Dental Caries Research. Bacteriological Findings and Biological Implications
Internat. Dent. J. 12, 434-464 (1962)
35. KEYES, P. H. : The Infection and Transmissible Nature of Experimental Dental Caries. Findings and Implications
Arch. Oral Biol. 1, 304-320 (1960)
36. KEYES, P. H. and FITZGERALD, R. J. : Dental Caries in Syrian Hamsters IX
Arch. Oral Biol. 7, 267-278 (1962)
37. KITE, O. W., SHAW, J. H. and SOGNAESS, R. F. : The Prevention of Experimental Tooth Decay by Tube Feeding
J. Nutrit. 42, 89-103 (1950) zit. nach Survey of the Literature of Dental Caries
38. KOTHE, J. und SCHÜTZMANNISKY, G. : Vergleichende Untersuchungen zwischen Kariesanfälligkeit und O₂-Verbrauch des Speichels und ihre Verwendbarkeit als Kariestest
Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferhkd. 27, 347 (1957)
39. KRASSE, B. : Recent Advantages in Dental Caries Research Bacteriology. Formation of Plaques
Internat. Dent. J. 12, 465-475 (1962)
40. KRÖNCKE, A. und NAUJOKS, R. : Biochemische Speicheluntersuchungen V. Weitere Ergebnisse zur Entwicklung eines biochemischen Kariestestes.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 9, 565-567 (1954)
41. KÜHL, W. : Die Quecksilberdampfabgabe von Amalgamfüllungen
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 21, 496-498 (1966)
42. KÜHNAU, J. : Zit. nach BRAMSTEDT, F., KRÖNCKE, A. und NAUJOKS, R. :
The Physiological Effect of Low Doses of Fluorine
J. Dent. Belge 6, 373-390 (1958)

43. LEONE, N. C., STEVENSEN, C. A., HILBISH, T. F. and SOSMAN, M. C. : A Roentgenologic Study of a Human Population Exposed to High Fluoride Domestic Water. A Ten Years Study
Amer. J. Roentgenolog. 74, 874-885 (1955)
44. LIPMANN, F. : Weitere Versuche über den Mechanismus der Fluorhemmung und die Dissoziationskurve des Fluor-Methaemoglobins
Biochem. Zschr. 206, 171 (1929)
45. LOTT, V. H. : Die Bedeutung des Fluors für die Vorgänge an der Zahnoberfläche
Schweiz. Mschr. Zahnhlkd. 72, 656-668 (1962)
46. LUNDQUIST, C. : Oral Sugar Clearance; Its Influence on Dental Caries Activity
Odont. Revy 3 Suppl. 1 121 (1952)
47. MALM, M. : Quantitative Bestimmung der Permeabilität der Hefezellen für Fluor
Naturwiss. 28, 723 (1940)
48. MARTHALER, T. M.: Effect of Amine Fluoride Toothpastes on Caries in Children after Three Years Un-supervise Use
Schweiz. Mschr. Zahnhlkd. 73, 390-409 (1963)
49. MARTHALER, T. M.: Kariesstatistische Resultate der Trinkwasserfluoridierung im bleibenden Gebiß und was sie von der Salzfluoridierung erwarten lassen
Schweiz. Mschr. Zahnhlkd. 70, 315 (1960)
50. MELCHIOR : Inhibition of Yeast Hexokinase by Fluoride Ion
Science 124, 402 (1956)
51. MUHLER, J. C. : The Effectiveness of Stannous Fluoride in Children Residing in An Optimal Communal Fluoride Area
J. Dent-Child. 27, 51-54 (1960)
52. NAUJOKS, R., BRAMSTEDT, F., RANKE, E., KRÖNCKE, A. : Beziehung zwischen Aldolaseaktivität des Speichels und der Karies
Arch. Oral Biol. 4, 179-186 (1961)

53. NAUJOKS, R.,
RANKE, B.,
RUST, H. : Zur Frage der Penetration des Dentins und
der Beeinflussung der Glykolyse im Spei-
chel durch Quecksilber aus Silberamalgam-
füllungen
Dtsch.zahnärztl. Zschr. 18, 459-467 (1963)
54. NAUJOKS, R., und
VONDERLINN, R. : Biochemische Speicheluntersuchungen IV.
Klinische Überprüfung der Möglichkeit
zur Entwicklung eines biochemischen
Kariestests auf der Grundlage des Sauer-
stoffverbrauchs des menschlichen Speichels
Zahnärztl. Rundschau 62, 438-441 (1953)
55. NEUBAUER, T. und
NAUJOKS, R. : Über die Spaltung der Saccharose und Mal-
tose im menschlichen Speichel
Arch. Oral Biol. 6, 221-227 (1961)
56. NEUMANN, W.F. : The Surface Chemistry of Bone II.
et al. Fluoride Deposition zit. nach HODGE, H.C. :
Reaction between Fluoride and Hydroxyl-
apatite
J. Dent. Res. 39, 1114-1115 (1960)
57. NICKERSON, J. W.
and CHUNG, C. W. : Reversal of Fluoride Inhibition of Yeast
Growth with Glukose-1-Phosphate
Americ. J. Bot. 39, 669-679 (1961)
58. OEHLISCHLÄGER, J. : Über Hexokinaseaktivität von Neisseria
perflava
Zahnmed. Diss. Würzburg (1965)
59. ORLAND, F. J. : An Evolution of Bacteria and Antibiotica
in the Dental Caries Process
Mil. Surgeon, Wash. 106 (1950)
60. ORLAND, F. J. : Newer Development in the Oral Enviro-
nmental Relations to Dental Caries
Penn. Dent. J. Philadelphia 17 (1950)
61. ORLAND, F. J.,
BLAYNEY, J. R.,
HARRISON, R. W.,
REYNIERS, J. A.,
TREXLER, P. C.,
ERWIN, R. F.,
GORDON, H. A. and
WAGNER, M. : Experimental Caries in Germfree Rats
Inoculated with Enterococci.
J. Amer. Dent. Ass. 50, 259 (1955)

62. ORLAND, F. J.,
BLAYNEY, J. R.,
HARRISON, R. W.,
REYNIERS, J. A.,
WAGNER, M.,
TREXLER, P. C.,
GORDON, H. A. and
LUCKEY, T. D. Use of the Germfree Animal Technic in the
Study of the Experimental Dental Caries
J. Dent. Res. 33, 147-174 (1954)
63. PAMEIJER, J. H. N.,
BRUDEVOLT, F. and
HUNT, E. R. jr. : A Study of Acidulated Fluoride Solutions III.
The Cariostatic Effect of Repeated Topical
Sodium Fluoride Applications with and
without Phosphate;
A Pilot Study
Arch. Oral Biol. 8, 183-185 (1963)
64. PATZ, J. : Der Einfluß von Fluor- und Kupferionen
auf den Glukoseabbau durch Streptococcus
salivarius unter aeroben Versuchsbedin-
gungen
Zahnmed. Diss., Würzburg (1965)
65. PEDERSEN, P. O. : Ernährung und Zahnkaries primitiver und
urbanisierter Grönländer
Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferhkd. 6,
728-734 (1939)
66. PFEIFLE, K. : Der Einfluß von Fluor- und Quecksilber-
ionen auf den Glukoseabbau durch Neisseria
perflava unter aeroben Bedingungen
Zahnmed. Diss., Würzburg (1966)
67. RANKE, B. : Über den Einfluß von Metallen auf die Gly-
kolyse im menschlichen Speichel
Arch. Oral Biol. 6, 228-233 (1961)
68. RASCHKA, B. : Der Einfluß von Fluor- und Quecksilber-
ionen auf den Glukoseabbau durch Strepto-
coccus salivarius unter aeroben Versuchs-
bedingungen
Zahnmed. Diss., Würzburg (1966)
69. RUNNSTRÖM, J.
und SPERBER, E. : Zur Kenntnis der Beziehung zwischen Per-
meabilität und Stoffwechsel der Hefezelle
Biochem. Z. 298, 340 (1938)
70. SCHULERUD, A. : Dental Caries and Nutrition during Wartime
in Norway
Oslo, Fabritius och Sommers Tryckerei 1950
zit. Survey of the Literature of Dental
Caries

71. SHAW, J. H. : The Effect of Carbohydrate-free and Carbohydrate-low Diets on the Incidence of Dental Caries in White Rats
J. Nutrit. 53, 151-162 (1954) zit. nach Survey of the Literatur of Dental Caries
72. SHEPPARD, M. S. : The Bactericidal Action of Pure Metals and Metal Fillings
Dental Cosmos 77, 968-975 (1935)
73. STEPHAN, R. M. and MILLER, B. F. : A Quantitative Method for Evaluating Physical and Chemical Agents which Modify Production of Acids in Bacterial Plaques on Human Teeth
J. Dent. Res. 22, 1-12 (1934)
74. SWENANDER-LANKE, L. : Influence of Salivary Sugar of Certain Properties of Foodstuffs and Individual Oral Conditions
Acta Odont. Scand. 15 Suppl. 13 1-156 (1957)
75. THIMANN, K. V. : Das Leben der Bakterien
G. Fischer-Verlag, Jena (1963)
76. TOVERUD, G. : Dental Caries in Norwegian Children during and after the Second World War
J. Amer. Dent. Ass. 26, 673-680 (1950)
77. TRAUTZ, O. R. and ZAPANTA, R. R. : Experiments with Calcium Carbonate Phosphates and the Effect of Topical Application with Sodium Fluoride
Arch. Oral Biol. Special Supplement 4, 122-133 (1961)
78. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. and STAUFFER, J. F. : Manometric Techniques
Burgess Publishing Co. Minneapolis (1964)
79. VOLKER, J. F. : Effect of Fluorine on Solubility of Enamel and Dentine
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 725-732 (1939)
zit. nach LOTT, V. H. :
Die Bedeutung des Fluors für die Vorgänge an der Zahnoberfläche
Schweiz. Mschr. Zahnheilkd. 72, 656-668 (1962)

80. VOLKER, J. F. : Studies on the Acid Solubility of Human Enamel
J. Dent. Res. 19, 35-40 (1940)
81. WARBURG, O. : Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten
Verlag Dr. Werner Saenger, Berlin (1948)
82. WARBURG, O. und CHRISTIAN, W. : Chemischer Mechanismus der Fluoridhemmung der Gärung
Naturwiss. 29, 590 (1941)
83. WELLOCK, W. D. and BRUDERVOLD, F. : A Study of Acidulated Fluoride Solutions II. The Caries Inhibiting Effect of Single Annual Topical Applications of an Acidic Fluoride and Phosphate Solution. A Two Years Experience
Arch. Oral. Biol. 8, 179-181 (1963)
84. WILLIAMS, N. B. and EICKENBERG, C. F. : Effects of Sonic Vibration on the Numbers of Microorganisms Cultivable from Human Salvia
J. Dent. Res. 31, 428-439; 470-471 (1952)
85. WRIGHT, D. E. and JENKINS, G. N. : The Effect of Fluoride on the Acid Production of Saliva-Glucose Mixtures
Brit. Dent. J. 96, 30-33 (1954)
zit. nach LOTT, V. H. :
Die Bedeutung des Fluors für die Vorgänge an der Zahnoberfläche
Schweiz. Mschr. Zahnhlkd. 72, 656-668 (1962)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor
Dr. R. Naujoks für die Überlassung des
Themas, für die Hilfsbereitschaft und Unter-
stützung während der Anfertigung dieser Ar-
beit und für die Übernahme des Referates.

LEBENS LAUF

Am 6. September 1940 wurde ich als zweiter Sohn des gefallenen Prof. Dr. Ing. habil. Heinrich Roßbach und seiner Ehefrau Dr. med. dent. Elisabeth Roßbach, geb. Gläser, in Karlsruhe geboren.

Von 1944 bis 1947 lebte ich in Eisenach/Thüringen. Seit 1947 besuchte ich in Karlsruhe die Volksschule und wechselte 1951 auf das Helmholtz-Gymnasium über. Dort legte ich 1960 die Reifeprüfung ab. Seit dem Sommersemester 1960 studierte ich an der Universität München Zahnheilkunde. In München bestand ich im Herbst 1962 die zahnärztliche Vorprüfung und beendete nach weiteren 5 Semestern an der Universität Würzburg am 2. August 1965 mein Studium der Zahnheilkunde mit der zahnärztlichen Prüfung.

Von September 1965 bis März 1966 führte ich vertretungsweise die mütterliche Praxis. Seit dem 1. April 1966 bin ich in der prothetischen Abteilung der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten beschäftigt.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner weiteren Seite ein Dissertationsthema erhalten habe.

Albrecht Roßbach

LEBENSLEISTE

Am 1. September 1900 wurde ich als zweites Kind des Ehepaares
Herrn Dr. med. habil. Hermann Hübner und seiner Ehefrau in
Herrn Hübner, geb. Hübner, in Hildesheim geboren.

Von 1900 bis 1904 wurde ich in Hildesheim/Hildesheim für drei Jahre
in die Kaiserliche Hofbibliothek und anschließend 1905 und von 1906
bis 1908 in die Kaiserliche Hofbibliothek in Berlin aufgenommen. Dort legte ich 1908 die Reifeprüfung ab. Von
1908 bis 1910 studierte ich an der Kaiserlichen Hofbibliothek in
Berlin. In diesem Zeitraum wurde ich in Berlin 1909 als
Hilfsbibliothekar und Bibliothekar nach Weimar in Weimar
versetzt. Während des 1. August 1910 wurde meine Versetzung
nach der Kaiserlichen Hofbibliothek in Weimar.

Von September 1910 bis März 1912 wurde ich in Weimar
als Bibliothekar in der Kaiserlichen Hofbibliothek
versetzt. Am 1. April 1912 wurde ich in die Kaiserliche
Hofbibliothek in Berlin versetzt und wurde am 1. April 1912
als Bibliothekar in der Kaiserlichen Hofbibliothek in Berlin
versetzt.

Im weiteren Verlauf meines Lebens habe ich die Kaiserliche Hofbibliothek
als Bibliothekar und später als Bibliothekar in der Kaiserlichen
Hofbibliothek in Berlin. Ich wurde am 1. April 1912
als Bibliothekar in der Kaiserlichen Hofbibliothek in Berlin
versetzt. Am 1. April 1912 wurde ich in die Kaiserliche
Hofbibliothek in Berlin versetzt und wurde am 1. April 1912
als Bibliothekar in der Kaiserlichen Hofbibliothek in Berlin
versetzt.

Handwritten signature

